芍藥不同炮炙品及芍藥甘草湯鎮痛、鎮靜、解熱作用與活性成分含量變化之研究

謝明村[1]　林穎志[1]　彭文煌[1]　蔡輝彥[1,2]　張光雄[1]　陳介甫[3]

[1]中國醫藥學院　中國藥學研究所

[2]中國醫藥學院附設醫院　藥劑部

[3]國立中國醫藥研究所

摘　要

本研究以藥理學方法(pentobarbital 誘發睡眠,醋酸扭體法,福馬林試驗,中樞神經興奮劑引起之痙攣試驗,LPS誘發高溫)探討芍藥不同炮炙品(生品、醋炙、酒炙、麩炒炙)及其與炙甘草組成之芍藥甘草湯之鎮靜、鎮痛、抗痙攣、解熱及降溫等藥理作用之差異性，並以高效液相層析法(HPLC)測定芍藥不同炮炙品及其與炙甘草組成之芍藥甘草湯中所含主成分（芍藥苷、丹皮酚）之含量變化，藉以瞭解芍藥炮炙品對於芍藥甘草湯之藥理作用與主成分含量變化之關係。

實驗結果顯示，芍藥各炮炙品及其與炙甘草組成之芍藥甘草湯均可延長pentobarbital誘發之睡眠時間，生品、醋炙品及酒炙品芍藥及芍藥各炮炙品與炙甘草組成之芍藥甘草湯對醋酸扭體次數有明顯抑制作用；醋炙品及酒炙品芍藥及生品、醋炙品及酒炙品芍藥甘草湯對福馬林試驗之前期舔足時間有抑制作用，醋炙品及酒炙品芍藥及各炮炙品芍藥甘草湯對福馬林試驗之後期舔足時間有抑制作用，芍藥不同炮炙品及生品、醋炙品及酒炙品芍藥甘草湯對正常大鼠體溫有降溫效果，醋炙、酒炙及麩炒炙品芍藥和醋炙及酒炙芍藥甘草湯對LPS誘發之高溫有明顯抑制作用；醋炙品及酒炙品芍藥及醋炙品及酒炙品芍藥甘草湯對 strychnine 誘發陣發性痙攣時間有明顯延長作用。

高效液相層析法分析芍藥不同炮炙品及其與炙甘草組成之芍藥甘草湯中芍藥苷、丹皮酚或甘草酸之含量變化，結果顯示以醋炙與酒炙品含量最高，依次是生芍藥與麩炒炙芍藥，且複方之主要成分含量皆比單味爲高。

綜合以上結果，顯示芍藥各炮炙品及其與炙甘草組成之芍藥甘草湯中，以醋炙及酒炙品之鎮靜、鎮痛、抗痙攣、降溫及解熱效果最好，主成分含量最高，臨床使用上應以醋炙及酒炙爲佳。

關鍵詞：芍藥炮炙品、芍藥甘草湯、鎮痛、鎮靜、解熱

連絡人：謝明村

通訊處：台中市學士路九十一號

中國藥學研究所

緒 言

芍藥甘草湯首載傷寒論，由芍藥與甘草二味藥物所組成，主治：傷寒、脈浮、自汗出、心煩等症[1]。傳統中醫運用本方治病，甘草皆用炙甘草[2]，然芍藥於臨床運用上，就有依病人之病證不同而有不同之芍藥炮炙品入方，如酒炙芍藥入方，取其酒爲辛甘大熱之品，有緩和酸寒之性[3]；醋炙有柔肝止痛之效[4]，因此歷來芍藥甘草湯中之芍藥應以何種炮炙品入方始能獲致創方之主治功能，學者近年來有不同見解，殷玉生氏指出單味芍藥醋炙品鎭痛作用最強，麩炒炙品鎭痛作用最弱[5]，關於芍藥鎭痛之主成分芍藥苷(Paeoniflorin)殷氏指出以麩炒品含量呈最高[5]；然張兆旺氏指出芍藥甘草湯方運用芍藥酒炙品之芍藥苷含量最低[6]，故推論芍藥苷不是唯一之鎭痛成分[5]，惟芍藥甘草湯鎭痛藥理作用與芍藥炮炙後之芍藥苷含量均無一致性，實有待進一步探討。

因此本研究擬以現代藥理學方法探討芍藥之生、醋、酒、麩炒等不同炮炙品及其與炙甘草所組織之芍藥甘草湯的鎭痛、鎭靜、解熱降溫、抗痙攣等藥理作用，並以高效液相層析法(HPLC)分析芍藥不同炮炙品及由不同炮炙品與炙甘草所組成之芍藥甘草湯的芍藥苷與丹皮酚(paeonol)、甘草酸(glycyrrhizic acid)之含量變化，以探討其藥理作用強弱與主成分含量變化之關係，藉以找出藥理作用最強，有效成分含量最高之炮炙方法，以作爲臨床醫療運用上之參考，俾有助中醫中藥的現代化與科學化。

材料與方法

一. 藥材之製備

1. 本實驗採用芍藥 Paeonia lactiflora Pall.的乾燥根，進行以下不同之炮炙:

(1)生白芍: 揀去雜質，分開大小個，用水洗淨浸泡至八成透，撈出，晒曬，潤至內外濕度均勻，切片，乾燥。

(2)醋炙白芍: 取白芍片，用米醋噴淋均勻，稍潤，置鍋內用文火微炒，至表面淡黃色取出，放涼。(每白芍片 100 公斤，用米醋 15 公斤)。

(3)酒炙白芍: 取白芍片，用黃酒噴淋均勻，稍潤，置鍋內用文火微炒，取出，放涼。(每白芍片 100 公斤，用黃酒 10 公斤)。

(4)麩炒白芍: 取白芍片，將內鍋加熱至微紅，撒入麩皮再倒入白芍，武火炒至微黃(每白芍片 100 公斤，用麥麩 10 公斤)共炒，取出，放涼。

將生白芍、醋炙白芍、酒炙白芍、麩炒白芍分別以純水浸泡，在 50℃水浴中浸煮 72 小時後用紗布過濾，收集濾液，如此反覆五次合併濾液，再經減壓濃縮，在烘箱內以 50℃下烘乾，即分別得到生白芍粗抽物(以下簡稱 PAR)，醋炙白芍粗抽物(以下簡稱 PARa)，酒白芍粗抽物(以下簡稱 PARb)，麩炒白芍粗抽物(以下簡稱 PARc)，抽取率依序分別爲 7.08%，9.46%，8.76%及 5.98%。

將芍藥不同炮炙品與炙甘草所組成之不同炮炙品芍藥甘草湯，同上步驟經萃取、過濾、減壓濃縮、烘乾，即分別得到生芍藥甘草湯(以下簡稱 SKT)，醋炙芍藥甘草湯(以下簡稱 SKTa)，酒炙芍藥甘草湯(以下簡稱 SKTb)，炒炙芍藥甘草湯(以下簡稱 SKTc)，抽取率依序分別爲 8.36%，13.28%，10.30%及 7.11%。。

二、實驗試藥

Lipopolysaccharide ,aspirin ,formalin ,acetid acid 以上均購自(sigma)。

Pentobarbital sodium（日本東京化成工業）。Paeoniflorin ,paeonol glycyrrihizic acid(日本米山)。Diazepam(羅氏製藥廠)

三、實驗動物

1. ICR 系雄性小鼠 ,體重 20～25 公克。

2. Sprague-Dawley 系雄性大鼠 ,體重 200～250 公克 。

四、對 pentobarbital 誘發的睡眠時間之影響

芍藥不同炮炙品與其和炙甘草組成之芍藥甘草湯粗抽物以不同劑量口服給予小鼠，於給藥 90 分鐘後，腹腔注射 pentobarbital（40 mg/kg）誘發睡眠。觀察並記錄從注射 pentobarbital 後至小鼠之正向反射（righting re-

flex）的消失時間（onset）及從正向反射消失至恢復的時間（sleeping time，duration）。對照組給生理食鹽水

五、鎮痛試驗(Analgesic Test)

(1) 醋酸扭體反應 (writhing response)實驗

芍藥不同炮炙品及其與炙甘草組成之芍藥甘草湯粗抽物以不同劑量口服給予小鼠，於給藥 90 分鐘後，由腹腔注射 1% acetic acid (給藥量 0.1ml/10g)，觀察並記錄小鼠注射 5 分鐘後之重覆肌肉收縮及所伴隨之後肢伸張次數之扭體反應(writhing response),連續記錄十分鐘。對照組給生理食鹽水

(2)福馬林試驗(formalin test)

口服給予不同劑量之芍藥不同炮炙品與其和炙甘草組成之芍藥甘草湯粗抽物，90 分鐘後於小鼠右後足背皮下注射 25μl 1%formalin，觀其舔右後足所花時間，其中 0-5 分鐘稱前期(early phase)，15-35 分鐘稱後期(late phase)，觀察記錄 35 分鐘。對照組給生理食鹽水，正對照組給 aspirin。

六、對正常大鼠肛溫變化之影響

於固定架上訓練 4 至 7 天，使大鼠習慣於固定架上不動，選擇較能適應之大鼠置於恆溫箱(22±1 ℃)中，以一外包 PE-200 之 Copper-consantan 熱電偶線插入大鼠肛門內約 6 公分，另一端連接至溫度記錄器，測量記錄大鼠之直腸溫度(肛溫)，待偵測一小時穩定後(控制組)，再口服不同劑量之芍藥不同炮炙品與其和炙甘草組成之芍藥甘草湯粗萃取物，每 30 分鐘記錄一次，連續記錄 3 小時，對照組給生理食鹽水。

七、對 LPS 誘發高溫大鼠肛溫變化之影響

選擇上述適應之大鼠，將大鼠固定於固定架上，依方法五，測量並記錄大鼠肛溫(直腸溫度)，待溫度穩定後，腹腔給予 LPS 100μg/kg 誘發高溫，60 分鐘後分別口服給予不同劑量芍藥不同炮炙品與其和炙甘草組成之芍藥甘草湯粗萃取物，並連續記錄大鼠之直腸溫度變化三小時，對照組給生理食鹽水。

八、芍藥不同炮炙品與炙甘草組成之芍藥甘草湯中主成分含量測定

以芍藥不同炮炙品 1g 與其和炙甘草組成之芍藥甘草湯粗萃取物 2g，溶於 50%之甲醇溶液之過濾取濾液，取 10μl 濾液打入 HPLC 中進行主成分含量分析。

本實驗使用高效液相層析之條件：

1. 芍藥苷含量測定條件

(1) Pump：Waters 610

(2) Column：Inertsil ODS

(3) Detecter：UV 243nm

(4) Mobile phase：0.1%磷酸: Acetonitrile = 85:15

(5)流速：1.0ml/min

2. 丹皮酚含量測定條件

(1) Pump：Waters 510

(2) Column：Inertsil, ODS

(3) Detecter：UV 274nm

(4) Mobile phase：醋酸:Acetonitrile:水 =16:474:510

(5)流速：1.0ml/min

3. 甘草酸含量測定條件

(1) Pump：Waters 510

(2) Column：Inertsil ODS

(3) Detecter：UV 254nm

(4) Mobile phase：0.1% 磷酸：Acetonitrile=60:40

(5)流速：1.0ml/min

九、統計學分析:

本實驗所有結果的數據，均以 oneway-ANOVA 分析變異數，再以 Duncan's multiple range test 檢定其間差異的顯著性，凡 P 值小於 0.05 以下時，則認爲有統計意義。

結　果

一、對 pentobarbital 所誘發睡眠時間之影響:

如表一所示，不同劑量之芍藥不同炮炙品對於 pentobarbital 所誘發之睡眠時間均有顯著延長作用,其中醋炙芍藥在 0.1 g/kg 劑量下已有顯著作用，而其他炮炙品在此劑量下則無影響。

如表二所示,不同劑量之芍藥不同炮炙品與炙甘草組成之芍藥甘草湯粗抽物對於 pentobarbital 所誘發之睡眠時間皆有延長作用,其中生品、醋炙及酒炙芍藥甘草湯在 0.1 g/kg 劑量下已有顯著作用，而麩炒芍藥甘草湯則需在 1.0g/kg 劑量下才有顯著影響。

二、鎮痛作用:

(1)醋酸扭體反應(Acetid acid-induced writhing response) :

如表三所示芍藥不同炮炙品之不同劑量均可減少由醋酸所引起疼痛之扭動次數。其中以醋炙及酒炙芍藥最明顯。

如表四所示芍藥不同炮炙品與炙甘草所組成芍藥甘草湯不同劑量可減少醋酸所引起疼痛之扭動次數。其中以生品醋炙酒炙芍藥甘草湯最明顯。

Table 1. Effects of water extracts of Paeoniae Alba Radix on the pentobarbital- induced hypnosis in mice.

	Dose (g/kg,po)	Onset (min)	Sleeping time (min)
Control	—	4.42±0.16	26.60±0.35
PAR	0.1	3.97±0.14	34.10±0.77
	0.5	3.95±0.11	37.62±1.70*
	1.0	3.83±0.08	40.90±1.22**
PARa	0.1	3.98±0.14	38.12±1.19*
	0.5	3.82±0.17	41.47±2.85***
	1.0	3.73±0.11	50.92±1.22**
PARb	0.1	4.12±0.64	37.52±2.10
	0.5	4.05±0.48	39.47±1.24**
	1.0	3.98±0.13	44.82±0.82**
PARc	0.1	4.38±0.28	30.55±1.02
	0.5	3.88±0 12	36.80±1.54
	1.0	3.85±0.15	40.82±1.85**

Onset: righting reflex disappear.
Sleeping time : time from righting reflex disappearance to righting reflex recovery.*p<0.05,**p<0.01 , as compared with the control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)
PAR :生芍藥　　PARb :酒炙芍藥
PARa :醋炙芍藥　　PARc :麩炙芍藥

(2)福馬林舔足反應:

如圖一所示,醋炙與酒炙品芍藥可明顯減少小鼠福馬林前期之舔足反應時間 (58±1.0, 59±0.8 vs 68±1.5) 。

如圖二所示，醋炙與酒炙芍藥可明顯減少小鼠福馬林後期之舔足反應時間。

如圖三所示,以生品、醋炙與酒炙芍藥甘草湯可明顯減少小鼠福馬林前期之舔足反應時間。

Table 2. Effects of water extracts of Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang on the pentobarbital -induced hypnosis in mice.

	Dose (g/kg , po)	Onset (min)	Sleeping time
Control	—	4.42±0.16	26.60±0.35
SKT	0.1	4.02±0.09	34.17±1.35**
	0.5	3.82±0.11	38.43±0.94**
	1.0	3.87±0.13	42.26±0.93**
SKTa	0.1	3.93±0.11	1.29±1.44**
	0.5	3.87±0.27	42.79±1.15**
	1.0	3.90±0.134	51.41±1.03**
SKTb	0.1	3.85±0.26	38.29±0.56**
	0.5	3.91±0.27	40.10±0.54**
	1.0	3.92±0.05	46.24±1.27**
SKTc	0.1	4.04±0.33	30.91±0.44
	0.5	3.89±0.08	31.17±0.64
	1.0	3.89±0.11	41.79±0.94**

Onset: righting reflex disappear.Sleeping time: time from righting reflex disappearance to righting reflex recovery.
**p<0.01 , compared with the control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)
SKT :生芍藥甘草湯藥　　SKTb :酒炙芍藥甘草湯

Table 3. Effects of water extracts of Paeoniae Alba Radix on acetic acid-induced writhing response in mice.

	Dose (g/kg, po)	Writhing response
Control	—	39. 67±0.42
Indometha-	0.01	8.00±1.10**
PAR	0.1	36.00±1.13
	0. 5	30.00±1.86
	1.0	26.33±1.56 *
PARa	0.1	31.00±0.97
	0. 5	19.83±2.14 **
	1.0	16.67±0.49 **
PARb	0.1	34.00±1.34
	0. 5	21.67±2.93 **
	1.0	20.00±3.00 **
PARc	0.1	38.00±1.06
	0. 5	29.33±2.47
	1.0	29.17±1.72

*P<0.05 **P<0.01 as compared with the control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)
PAR :生芍藥　　PARb :酒炙芍藥
PARa :醋炙芍藥　　PARc :麩炙芍藥

Table 4. Effects of water extracts of Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang on acetic acid-induced writhing response in mice.

	Dose (g/kg, po)	writhing response
Control	—	40. 67±0.42
Indomethacin	0.01	8.00±1.10**
SKT	0.1	34.03±1.38**
	0.5	28.83±0.06**
	1.0	26.00±0.86**
SKTa	0.1	27.17±0.70**
	0.5	18.67±1.26**
	1.0	14.33±1.15**
SKTb	0.1	32.33±0.99**
	0.5	20.17±1.14**
	1.0	18.5 ±0.43 **
SKTc	0.1	37.5 ±1.18
	0.5	28.33±0.67**
	1.0	26 ±1.18**

**P<0.01 as compared with the control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)
SKT:生芍藥甘草湯藥　　SKTb:酒炙芍藥甘草湯
SKTa:醋炙芍藥甘草湯　　SKTc:麩炒炙芍藥甘草湯

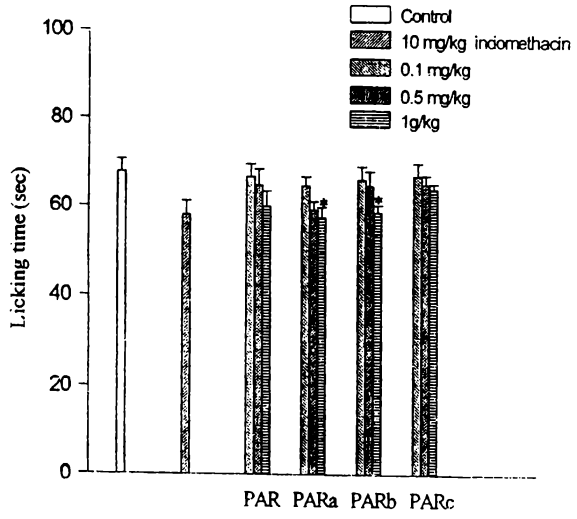

Fig 1. The effects of water extract of various preparations of Paeoniae Alba Radix on the early phase in the formalin test in mice.

*P<0.05 as compared with the control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test).
PAR：生芍藥　　PARb：酒炙芍藥
PARa：醋炙芍藥　　PARc：麩炙芍藥

如圖四所示芍藥不同炮炙品與炙甘草組成之芍藥甘草湯不同劑量,皆可明顯減少小鼠福馬林後期之舔足反應時間。

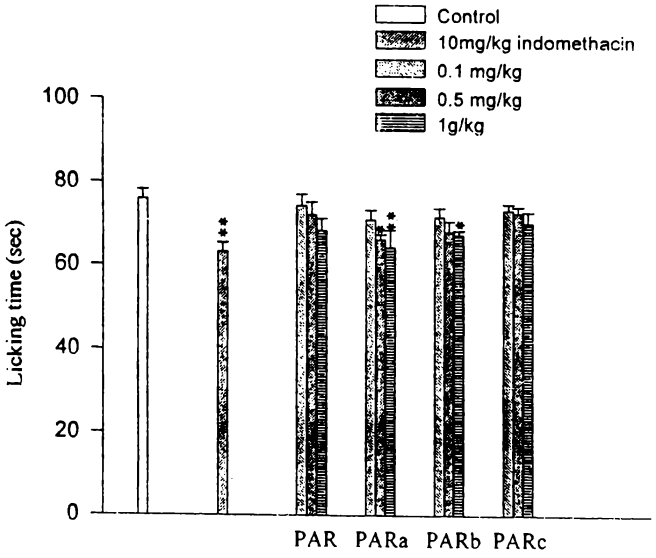

Fig 2. The effects of water extract of various preparations of Paeoniae Alba Radix on the late plase in the formalin test in mice.

*P<0.05,**P<0.01 as compared with the control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test).
PAR：生芍藥　　PARb：酒炙芍藥
PARa：醋炙芍藥　　PARc：麩炙芍藥

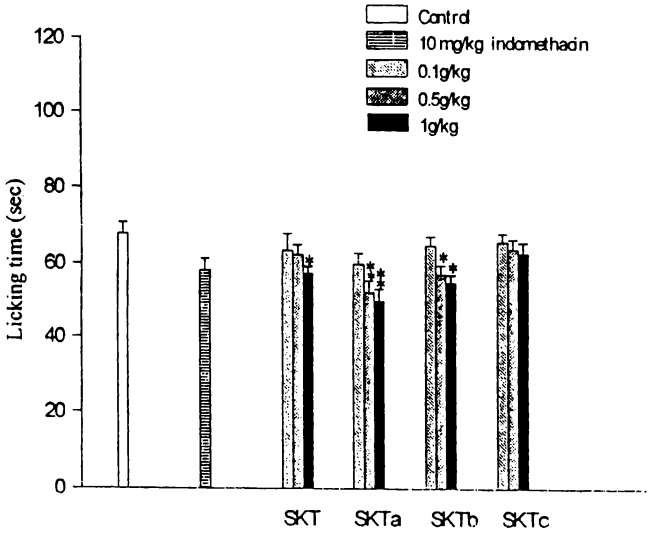

Fig3. The effects of water extract of various preparations of Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang on the early phase in the formalin test in mice.

*P<0.01 as compared with the control group(ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)
SKT：生芍藥甘草湯藥　　SKTb：酒炙芍藥甘草湯
SKTa：醋炙芍藥甘草湯　　SKTc：麩炒炙芍藥甘草湯

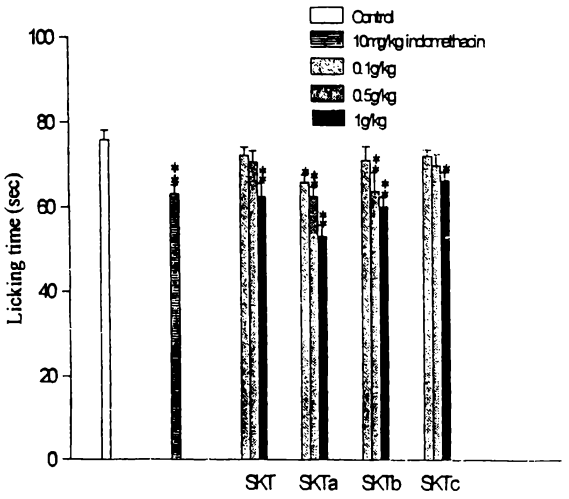

Fig4. The effects of water extract of various preparations of Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang on the late phase in the formalin test in mice.

*P<0.05,**P<0.01 as compared with the control group(ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

SKT：生芍藥甘草湯藥　　SKTb：酒炙芍藥甘草湯

SKTa：醋炙芍藥甘草湯　　SKTc：麩炒炙芍藥甘草湯

三、恆溫下 22±1°C對正常大鼠肛溫變化之影響：

如表五所示，1.0g/kg醋炙芍藥甘草湯，2.0g/kg生品芍藥甘草湯，麩炒品芍藥甘草湯及酒炙芍藥甘草湯，於口服給藥 90 分鐘後有降溫作用，而 2.0g/kg酒炙芍藥甘草湯之降溫作用並可延長至 150 分鐘 2.0g/kg，醋炙芍藥甘草湯，則於口服給藥 60 分鐘後即有降溫作用，此降溫作用可持續 150 分鐘。

如表六所示，1.0g/kg酒炙芍藥甘草湯，其中 2.0g/kg生品芍藥甘草湯，醋炙芍藥甘草湯及酒炙芍藥甘草湯，於口服給藥 90 分鐘後有降溫作用，醋炙芍藥甘草湯之降溫作用可延長到 180 分鐘，而 2.0g/kg酒炙芍藥甘草湯則可延長至 150 分鐘。

Table 5.Time course of the temperature effects of water extracts of Paeoniae Alba Radix in rats.

Treament	Dose g/kg	△T (°C) after drug's administration for					
		30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Control	—	0.13±0.08	0.10±0.06	0.10±0.06	0.15±0.05	0.13±0.05	0.12±0.05
PAR	1	-0.03±0.11	-0.07±0.37	-0.13±0.07	-0.13±0.20	-0.10±0.23	-0.03±0.06
	2	-0.17±0.06	-0.20±0.33	-0.53±0.06**	-0.25±0.25	-0.13±0.31	-0.10±0.09
PARa	1	-0.07±0.08	-0.20±0.17	-0.60±0.07**	-0.40±0.40	-0.33±0.35	-0.17±0.34
	2	-0.13±0.08	-0.47±0.07**	-1.83±0.17**	-1.17±0.17**	-0.97±0.12**	-0.63±0.26
PARb	1	-0.03±0.10	-0.10±0.18	-0.36±0.22	-0.30±0.26	-0.30±0.21	-0.10±0.07
	2	-0.03±0.08	-0.30±0.11	-1.40±0.12**	-1.00±0.12**	-0.70±0.11**	-0.20±0.18
PARc	1	-0.03±0.06	-0.07±0.07	-0.10±0.09	-0.10±0.09	-0.07±0.11	-0.03±0.06
	2	-0.03±0.08	-0.07±0.12	-0.33±0.04**	-0.17±0.12	-0.13±0.12	-0.07±0.30

*P<0.05,**P<0.01 as compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

PAR：生芍藥　PARb：酒炙芍藥　PARa：醋炙芍藥　PARc：麩炙芍藥

Table 6.Time course of the temperature effects of water extracts of Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang in rats.

Treament	Dose g/kg	△T (°C) after drug's administration for					
		30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Control		0.13±0.08	0.10±0.06	0.10±0.06	0.15±0.05	0.13±0.05	0.12±0.05
SKT	1	-0.75±0.05	0.00±0.14	-0.13±0.13	-0.08±0.13	-0.03±0.20	0.05±0.15
	2	-0.20±0.18	0.00±0.20	-0.60±0.08**	-0.30±0.21	-0.18±0.15	-0.15±0.2
SKTa	1	-0.13±0.05	-0.23±0.1	-0.65±0.1**	-0.43±0.13	-0.35±0.13	-0.20±0.14
	2	-0.15±0.17	-0.20±0.27	-1.95±0.34**	-1.40±0.23**	-1.1 ±0.13 **	-0.7 ±0.13*
SKTb	1	-0.25±0.17	-0.15±0.21	-0.50±0.10	-0.30±0.21	-0.33±0.05	-0.20±0.11
	2	-0.33±0.11	-0.33±0.11	-1.75±0.33**	-1.08±0.18**	-0.75±0.22**	-0.28±0.08
SKTc	1	-0.13±0.06	-0.25±0.06	0.18±0.14	-0.13±0.26	-0.13±0.11	-0.10±0.23
	2	0.00±0.20	0.00±0.20	-0.35±0.17	-0.18±0.09	-0.08±0.13	-0.25±0.16

*P<0.05,**P<0.01 as compared with control group (ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test)

SKT：生芍藥甘草湯藥　SKTa：醋炙芍藥甘草湯　SKTb：酒炙芍藥甘草湯　SKTc：麩炒炙芍藥甘草湯

四、對 LPS 誘發高溫大鼠肛溫變化之影響：

如表七所示 LPS(100μg/kg)ip 可誘發一明顯之高溫，芍藥不同炮炙品及其與炙甘草所組成之芍藥甘草湯中，以醋炙品及酒炙品可顯著降低 LPS 誘發之發燒現象,其中以醋炙作用最強，方劑優於單味，醋炙芍藥甘草湯解熱作更達 2 小時以上。

五、高效液相層析儀(HPLC)測定芍藥不同炮炙品及芍藥甘草湯中芍藥苷(peoniflorin)、丹皮酚(paeonol)或甘草酸(glycyrrhizic acid)之含量變化：

如圖五所示，芍藥不同炮炙品中以醋炙芍藥所含 paeoniflorin 的含量最高，其次依序爲酒炙品、生品及麩炒品。芍藥甘草湯中亦以醋炙芍藥甘草湯所含 paeoniflorin 的含量最高，其次依序爲酒炙品、生品及麩炒品。

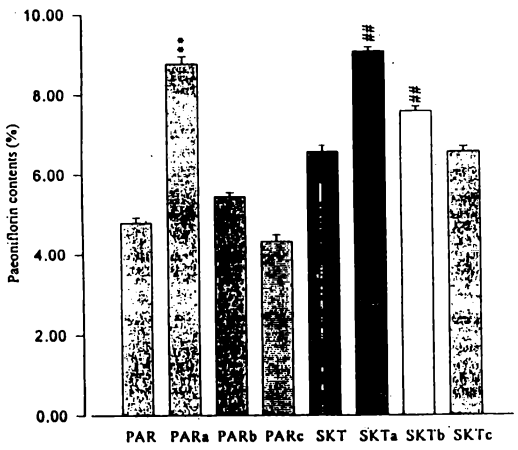

Fig5. Paeoniflorin contents in PAR, PARa, PARb, PARc, SKT, SKTa, SKTb, SKTc exeracts by using HPLC method

**P<0.01 as compared with the control group(ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test).

##P<0.01 as compared wiht the SKT(ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test).

PAR：生芍藥　　PARb：酒炙芍藥
PARa：醋炙芍藥　　PARc：麩炙芍藥
SKT：生芍藥甘草湯藥　　SKTb：酒炙芍藥甘草湯
SKTa：醋炙芍藥甘草湯　　SKTc：麩炒炙芍藥甘草湯

Table 7. Time course of the effects of various preparations of Paeoniae Alba Radix and SKT on the hyperthermia induced by intraperitoneal administration of LPS.

Time Course (min)		△T (℃) after drug's administration for				
		90	120	150	180	210
Control	—	0.10±0.06	0.11±0.06	0.15±0.05	0.13±0.05	0.12±0.05
LPS	100ug/kg	1.40±0.08	1.38±0.18	1.28±0.17	0.93±0.09	0.9±0.04
LPS+PAR	2 g/kg	1.00±0.36	1.08±0.17	0.68±0.13	0.73±0.05	0.70±0.11
	1g/kg	1.00±0.31	1.40±0.31	1.03±0.43	0.80±0.12	0.80±0.35
LPS+PARa	2 g/kg	0.60±0.08**	0.50±0.04*	0.58±0.16*	0.70±0.15	0.53±0.13
	1g/kg	0.70±0.13*	0.87±0.29	0.93±0.35	0.83±0.23	0.80±0.12
LPS+PARb	2 g/kg	0.85±0.05**	0.90±0.21	0.90±0.11	0.6±0.08	0.58±0.10
	1g/kg	0.90±0.24*	1.07±0.24	1.13±0.07	0.67±0.24	0.60±0.12
LPS+PARc	2 g/kg	1.28±0.17	1.28±0.13	1.35±0.13	0.98±0.13	0.87±0.35
	1g/kg	1.33±0.24	1.13±0.18	1.20±0.12	0.93±0.13	0.87±0.35
LPS+SKT	2 g/kg	1.00±0.23	1.03±0.06	0.70±0.35	1.27±0.18	0.60±0.38
	1g/kg	1.20±0.12	0.87±0.07	0.80±0.10	0.80±0.11	0.87±0.13
LPS+SKTa	2 g/kg	0.40±0.23**	0.37±0.07**	0.35±0.09**	0.40±0.12*	0.90±0.17
	1g/kg	0.60±0.17*	0.83±0.120*	0.67±0.18	0.87±0.44	0.60±0.41
LPS+SKTb	2 g/kg	0.53±0.13**	0.90±0.15	0.80±0.23	0.67±0.47	0.63±0.12
	1g/kg	1.00±0.50*	0.87±0.18	0.60±0.12	0.73±0.24	0.73±0.20
LPS+SKTc	2 g/kg	1.13±0.22	1.13±0.27	1.00±0.31	0.7±0.06	0.63±0.38
	1g/kg	0.93±0.40	1.20±0.10	0.70±0.13	0.84±0.13	0.90±0.16

LPS was injected 60 min before oral administration of extracts of PAR and SKT. T difference between the Temperature of before injection and after injection. The values are mean ±SEM of 6 rats per group. *p<0.05, **p<0.01 significantly different from the corresponding control values

PAR:生芍藥　PARa:醋炙芍藥　PARb:酒炙芍藥　PARc:麩炙芍藥　SKT:生芍藥甘草湯藥　SKTa:醋炙芍藥甘草湯　SKTb:酒炙芍藥甘草湯
SKTc:麩炒炙芍藥甘草湯

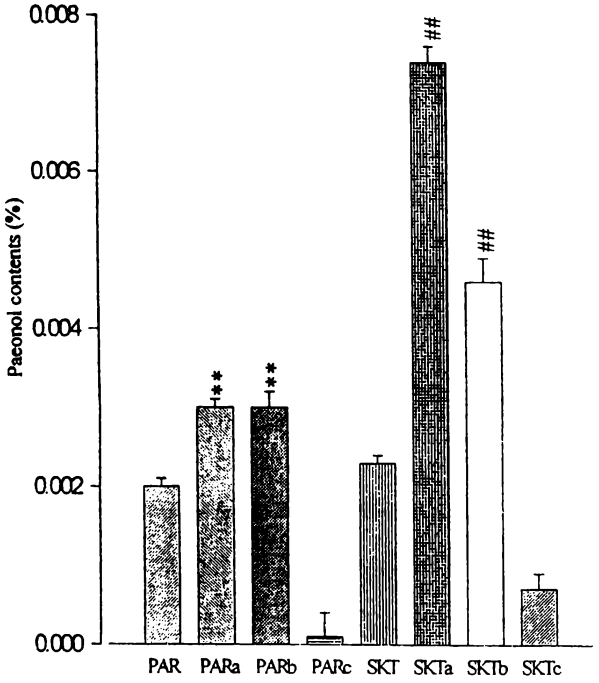

Fig6. Paeoniflorin contents in PAR, PARa, PARb, PARc, SKT, SKTa, SKTb, SKTc exeracts by using HPLC method

**P<0.01 as compared with the PAR(ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test).

##P<0.01 as compared wiht the SKT(ANOVA for repeated measures followed by Duncan's multiple range test).

PAR：生芍藥　　PARb：酒炙芍藥
PARa：醋炙芍藥　　PARc：麩炙芍藥
SKT：生芍藥甘草湯藥　　SKTb：酒炙芍藥甘草湯
SKTa：醋炙芍藥甘草湯　　SKTc：麩少炙芍藥甘草湯

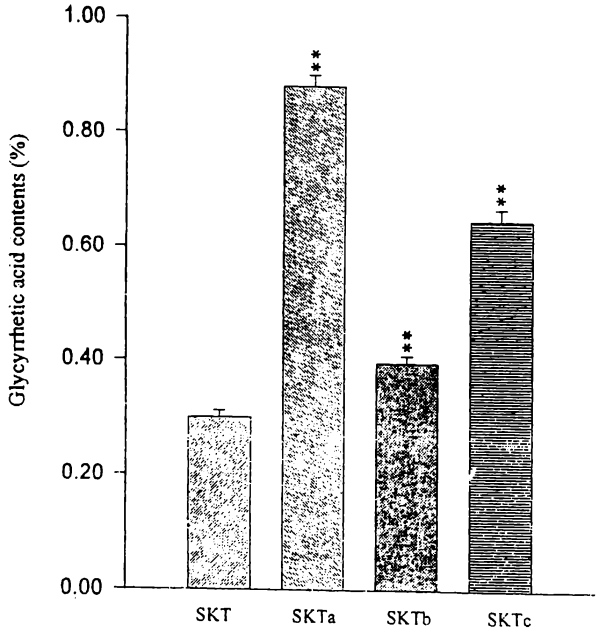

Fig 7. Glycyrrhizic acid contents in SKTa,SKTb, SKTc exeracts by using HPLC method

**P<0.01 as compared with the SKT group(ANOVA for erpeated measures followed by Duncan's multiple range test).

SKT：生芍藥甘草湯藥　　SKTb：酒炙芍藥甘草湯
SKTa：醋炙芍藥甘草湯　　SKTc：麩炒炙芍藥甘草湯

如圖六所示，芍藥不同炮炙品中以醋炙及酒炙芍藥所含 paeonol 的含量最高，其次依序爲生品及麩炒品。芍藥甘草湯中以醋炙芍藥甘草湯所含 paeonol 的含量最高，其次依序爲酒炙品、生品及麩炒品。

如圖七所示，芍藥甘草湯中以醋炙芍藥甘草湯所含 glycyrrhizic acid 的含量最高，其次依序爲麩炒品、酒炙品及生品。

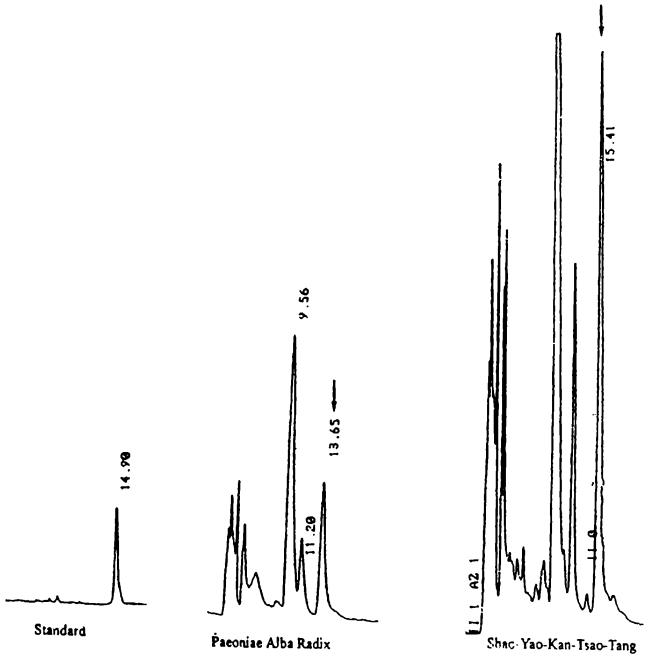

Fig8. HPLC chromatography of paeoniflorin in Paeoniae Alba Radix and Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang

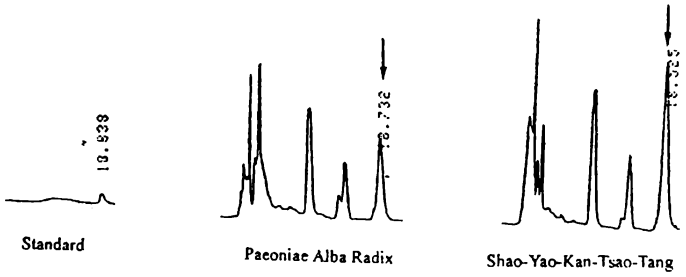

Fig9. HPLC chromatography of paeoniflorin in Paeoniae Alba Radix and Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang

討　論

芍藥在中醫臨床運用上，多用於治療疼痛性疾病[7]，然臨床上因病人體質及病症上的不同，中醫師辨證論治而採用不同之炮炙方法，如芍藥甘草湯，在傷寒論中則使用生品[1]，但辨壞病脈證併治全篇則採酒炙[1]；而於現代藥理學研究中，殷玉生等曾指出芍藥酒、醋炮炙後之芍藥鎮痛較佳[5]，另有張兆旺等指出芍藥甘草湯之鎮痛作用以酒、醋入方者爲佳；然在芍藥主成分芍藥苷含量變化上則以麩炒炙品之含量最高[6]。又據吳春福研究報告指出芍藥主含芍藥苷，其含量約爲3.5%，芍藥苷具有鎮痛、鎮靜、解痙、解熱及降溫等藥理作用，丹皮酚具鎮痛、鎮靜、催眠及對正常和發熱小鼠有降溫退熱作用[8]，甘草酸具解痙、抗炎、解毒作用[9]。爲究明芍藥不同炮炙品之藥理作用與主成分含量之關係，故本研究以藥理學方法探討芍藥不同炒炙品（生、醋、酒、炒）及其與炙甘草組成之芍藥甘草湯的鎮痛、鎮靜、解熱降溫及抗痙攣等作用，再以高效液相層析儀（HPLC）測定其主成分芍藥苷、丹皮酚或甘草酸之含量。

首先在pentobarbital誘發睡眠之實驗中，醋炙、酒炙芍藥及酒炙、醋炙芍藥甘草湯均具有顯著延長pentobarbital誘發之睡眠時間；由主成分含量實驗中發現，醋炙、酒炙芍藥及酒炙、醋炙芍藥甘草湯中芍藥苷及丹皮酚含量均較生品及麩炒炙品爲高，顯示其鎮靜之主要成分可能爲芍藥苷及丹皮酚；又方劑之芍藥苷及丹皮酚含量均較其單味芍藥炮炙品爲高，顯示炙甘草對於芍藥苷及丹皮酚的溶出有助益。

疼痛反應之刺激種類可分爲機械、溫熱、電氣及化學刺激等，醋酸扭體實驗乃是Siegmand等人所發展，以化學物質刺激動物[10]，(如醋酸)使產生腹肌收縮(扭體反應)的實驗，此實驗是以化學物質刺激化學敏感型接受體使動物疼痛而產生扭體反應，鴉片類與內生肽類等神經鎮痛物質及固醇類和非固醇類周邊性鎮痛抗炎物質皆可抑制此扭體反應，可廣泛用於篩選大部分鎮痛物質[10][11]。由本實驗結果得知，芍藥之四種炮炙品確實有鎮痛作用，且以酒炙、醋炙芍藥最明顯，鎮痛強度約爲indomethacin之55～56％。綜合主成分含量實驗結果顯示芍藥及芍藥甘草湯之鎮痛作用主成分可能爲芍藥苷及丹皮酚。

福馬林舔足實驗最早由Dubuisson和Dennis 1977年提出，對許多鎮痛藥物的篩選爲一可靠有效的方法[11]，皮下注射稀釋過之福馬林於大鼠、貓、小鼠或靈長類動物可觀察到兩相痛反應，在小鼠右後足掌注入formalin，因刺激引起疼痛而有舔足或頓足的行爲反應，在formalin注入0-5分鐘會造成起痛(initial pain)反應而引起小鼠舔足，稱之爲前期(early phase)，主要因直接刺激痛覺接受體造成substance P，bradykinin釋放；而在10-35分鐘所表現舔足時間稱之爲後期(late phase)，主要因爲發炎反應造成化學傳遞物質histamine、serotonin、prostaglandin及kinin由受損組織細胞中釋出所引起[12]。Steinar等人研究報告指出福馬林試驗對發炎性和非發炎性疼痛之鎮痛藥物評估爲一有效之模式[12]，前期爲非發炎性疼痛，後期爲發炎性疼痛，使用1%福馬林是因0.02-0.2%福馬林僅誘出前期舔足反應，而1%或更高之福馬林濃度可誘導前期和後期舔足反應[17]，故本研究以1%福馬林誘導疼痛反應。本實驗結果發現芍藥不同炮炙品以醋炙和酒炙芍藥對formalin引起之early phase時間有明顯抑制作用，而生品、醋炙和酒炙芍藥甘草湯也具明顯抑制作用。生品、醋炙及酒炙芍藥對formalin引起之late phase時間亦具明顯抑制作用，而芍藥各炮炙品與炙甘草所組成之芍藥甘草湯對formalin引起之late phase時間均具有顯著的抑制作用，顯示出芍藥不同炮炙品與其和炙甘草組成之芍藥甘草湯對福馬林試驗之前、後期皆有抑制作用，且有劑量依存性，綜合主成分含量實驗結果顯示芍藥及芍藥甘草湯之鎮痛作用主成分可能爲芍藥苷及丹皮酚。其鎮痛作用機轉可能與抑制substance P，bradykinin、serotonin、prostaglandin、histamine及kinin釋放有關，其確實之鎮痛機轉則有待進一步探討。

芍藥甘草湯之君藥芍藥除具有鎮靜、鎮痛、抗痙攣等作用外，據本校蔡輝彥教授及陳玉芳副教授研究顯示芍藥對正常大鼠亦具

明顯之降溫作用[14]；因此本研究擬進一步探討芍藥不同炮炙品及其與炙甘草所組成之芍藥甘草湯在解熱降溫作用上之關係。研究結果顯示，芍藥不同炮炙品及其與炙甘草所組成之芍藥甘草湯皆有降溫作用，且於口服 90 分鐘後降至最低，其中以醋炙、酒炙芍藥和醋炙、酒炙芍藥甘草湯效果最顯著，並可持續一較長之時間(約 60 分鐘)。在解熱作用方面，由於傳統上把能引起人體或動物發熱的物質，通稱爲致熱原（pyrogen），一般又可分爲外生性致熱原（exogenous pyrogens）及內生性致熱原（endogenous pyrogens）[15]。而外生性致熱原（如：endotoxin）可促使白血球與巨噬細胞等釋放內生性致熱原（如：interleukin-1, tumor necrosis factor, interferon, platelet-activating factor 和 IL-6 等）[16]，後者再作用於體溫調節中樞而產熱。1923 年 Seibert 指出引起動物體發燒的物質主要是來自葛蘭氏陰性菌 (gram-negative bacteria) 細胞壁受破壞所游離出的毒素，由於毒素是細菌體結構部份，因而稱爲細菌內毒素 (bacterial endotoxin)，細菌內毒素會造成動物畏寒 (chills)、發燒等症狀，甚至導致敗血性休克 (septic shock) 而死亡[17]。1943 年 Shear 根據細菌內毒素結構上特性，另命名爲 lipopolysaccharide 簡稱爲 LPS[18]。故本研究利用腹腔給予 LPS 誘發一較符合實際引發疾病發熱之動物模式[19]，對芍藥不同炮炙品及其與炙甘草所組成之芍藥甘草湯之解熱作用進行評估。實驗結果發現芍藥不同炮炙品及其與炙甘草所組成之芍藥甘草湯均具有顯著之解熱作用，且亦以醋炙、酒炙芍藥和醋炙、酒炙芍藥甘草湯爲最佳。此外，日本高木原田博士報告指出芍藥之主要活性成分芍藥苷具解熱降溫作用，本研究進行芍藥不同炮炙品及其與炙甘草所組成之芍藥甘草湯中所含芍藥含量之測定亦顯示以醋炙芍藥爲最高，酒炙芍藥次之，此與上述解熱降溫之結果相符合，故若芍藥甘草湯欲應用於解熱降溫時，建議以醋炙芍藥入方。

HPLC 含量測定實驗結果顯示，芍藥不同炮炙品中芍藥苷及丹皮酚含量以醋炙芍藥最高，酒炙芍藥次之，依次是生品與麩炒炙芍藥，在芍藥甘草湯中芍藥苷及丹皮酚之含量亦以醋炙芍藥甘草湯最高，酒炙芍藥甘草湯次之，依次是生品與麩炒炙芍藥甘草湯，本研究所測得芍藥苷含量與殷玉生及張兆旺等人的研究結果不相同，可能是炮炙方法或測定儀器靈敏度不同所致，又方劑中所測得之主成分含量比單味芍藥爲多，顯示炙甘草對芍藥主成分的溶出有促進作用。而炮炙品中則以醋炙及酒炙的主成分含量最高，顯示醋及酒對於芍藥主成分芍藥苷及丹皮酚的溶出亦有促進作用。

綜合上述芍藥不同炮炙品及其與炙甘草所組成之芍藥甘草湯以酒炙和醋炙品的鎮痛、鎮靜及解熱作用較佳，且主成分芍藥苷及丹皮酚之含量也較高，顯示芍藥在臨床鎮痛、鎮靜及解熱應用上應以醋炙或酒炙品爲佳。其主要有效成分可能爲芍藥苷及丹皮酚。

謝　辭

研究期間，承蒙明通化學製藥在含量檢測儀器和技術上之支援與指導，謹此致最高的謝忱。

參考文獻

1. 戴新民:傷寒論方証研究，啓業出版社，台北 1986；75
2. 李培生：實用經方集成。人民衛生出版社，北京，1996； 87。
3. 徐楚江：中藥炮制學，上海科學技術出版社，北京，1985；1：90
4. 張賢哲：中藥炮炙學，中國醫藥學院，台中 1992；126。
5. 殷玉生、張徵何：白芍炮制方法的研究。中成藥 1991；13:16-7
6. 張兆旺:芍藥甘草湯組方意義之的實驗研究，山東中醫學院 1990；14:49
7. 江紀武：植物有效成分手冊，人民衛生出版社，北京，1996; 799-800。
8. 管谷愛子：芍藥的藥理及藥效，國外醫學中醫中藥方分冊 1992;14:15
9. Kimura M, Kimura I, Takahashi K, Muroi M, Yoshizaki M, Kanaoka M: Blocking effects of blended paeoniflorin or its related compounds with glycyrrhizin on neuromuscular junction in frog and mouse. Jpn J Pharmacol 1984; 36: 275-82.

10. Siegmund E, Cadmus R, Lu G: A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. Proc Soc Exp Biol Med 1957; 95: 729-31.
11. Dubuisson D, Dennis SG: The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1977; 4: 161-74.
12. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R: Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. Pain 1989; 38:347-52.
13. Rosland JH, Tjolsen A, Maehle B, Hole K: The formalin test in mice: Effect of formalin concentration. pain 1990; 42: 235-42.
14. 陳玉芳、蔡輝彥、陳和昌、謝明村：臺灣藜蘆對於芍藥之中中樞神經系統之影響。中國醫藥學院研究年報 1989；15：436。
15. Mackowiak PA: Fever :basic mechanisms and management. Raven Press, New York 1991; 1-70.
16. Bouchama A, Parhar RS, Yazigi AE, Sheth K and Sedairy SA: Endotoxin and release of tumor necrosis factor and interleukin-1a in acute heat stroke. J Appl Physiol 1991; 70: 2640-4.
17. Seibrt F: Fever producing subtance found in some distilled water. Am J Physiol, 1923, 67: 90-104.
18. Rietschel ET, Brade H : Bacterial Endotoxins. Sci Am, 1992, 8: 54-61.
19. Morrow LE, Jennifer LM, Carole AC, Matthew JK: Glucocorticoids alter fever and IL-6 response to psychological stress. Am J Physiol 1993; 26415 (5 Pt 2): R1010-6.

A Study in the Analgesic, Sedative and Antipyretic Effects of Various Preparations of Paeoniae Alba Radix and Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang

Ming-Tsuen Hsieh[1] Ying-Chih Lin[1] Wen-Huang Peng[1] Huei-Yann Tsai[1,2]
Kuang-Hsiung Chang[1] Chieh-Fu Chen[3]

[1]*Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College*
[2]*Department of Pharmacy, China Medical College Hospital*
[3]*National Research Institute of Chinese Medicine*

In the present study, we investigated the sedative, analgesic, antipyretic and hypothermic effects of various preparations of Paeoniae Alba Radix(PAR, PARa, PARb and PARc) and Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang(SKT, SKTa, SKTb and SKTc) on hypnosis induced by pentobarbital, writhing response induced by acetic acid, formalin test, and fever induced by LPS. We also detected contents among major active constituents (paeoniflorin, paeonol)of various Paeoniae alba radix and Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang.

The result indicated that various preparations of Paeoniae Alba Radix and Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang prolonged the sleeping time induced by pentobarbital.PAR, PARa, PARb and various preparations of Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang inhibited the writhing response induced by acetic acid. PARa, PARb and various preparations of SKT shortened the feet-licking time of mice in the late phase of the formalin test. Various preparations of Paeoniae Alba Radix,SKT, SKTa and SKTb exerted a hypothermic effect in normal rats.

In the HPLC analysis, contents of paeoniflorin and paeonol found in PARa,PARb, SKTa and SKTb were higher than those of PAR, PARc, SKT and SKTc.Likewise, the content amounts of paeoniflorin and paeonol were also higher in Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang, as compared to Paeoniae Alba Radix.

In conclusion, alcohol and acetic acid preparations of Paeoniae Alba Radix and Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang possessed stronger sedative, analgesic, hypothermic and antipyretic effects than other preparations.They consisted a higher content of the major active constituents.Paeoniflorin and paeonol could be the active constituents in Paeoniae Alba Radix and Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang.

Key Words : Preparations of Paeoniae Alba Radix, Shao-Yao-Kan-Tsao-Tang,Analgesia, Sedation, Antipyretic effect